

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmakologie a toxikologie

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2022

Autor/ka práce: **Ngoc Duong Nguyen**

Vedoucí práce: Doc. PharmDr. Lukáš Červený, Ph.D.

Konzultant/ka:

Oponent/ka: PharmDr. Eduard Jirkovský, Ph.D.

Název práce: **Studie vlivu adenosinu na proliferaci buněčné linie JEG-3**

Rozsah práce: 48 stran, 11 obrázků, 2 tabulek, 71 citací

Hodnocení práce:

- | | |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: | dobrá |
| b) Náročnost použitých metod: | velmi dobrá |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): | dobré |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat: | velmi dobrá |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobré |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | dobré |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: | velmi dobrá |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: | dobrá |
| i) Splnění cílů práce: | výborné |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: | dobré |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): | dobrá |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | dobrá |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Předložená práce popisuje vliv nukleosidů na růst buněčné linie JEG-3. I přes to, že práce je menšího rozsahu, obsahuje mnoho příliš mnoho chyb na kvalifikační práci. Práci evidentně chybí důkladná korektura, co do věcné, gramatické a formální stránky. To činí práci ve výsledku jen velmi obtížně čitelnou, některé pasáže na sebe nenavazují logicky. Jazykově práce působí nepřirozeně, autorka používá nesprávné termíny a formulace (např. nekonzistentní psaní zkratk a odborných názvů, chybné termíny jako platelety nebo fosforylizace aj.; v kap. 3.4.3 věta "Naše doposud nepublikovaná data naznačují..." končí citací na opublikovaný článek Jirásková et al. 2018; v legendě obrázků 8 a 9 např. „Hodnota *p <0.05; **p <0.01 jsou relevantní vůči kontrole“). Chybí číslování stránek, citace nemají jednotný formát a autorka málo používá primární zdroje (opravdu na preeklampsii není lepšího zdroje než wikisript, pro definici nukleosidů slovník VŠCHT a pro popis JEG-3 buněk stránky dodavatele, kterého jste nepoužili?). V seznamu použité literatury se objevují duplicitní (5x) i triplicitní citace. Zcela nepochopitelně pro mě jsou od literatury odděleny webové zdroje, které navíc odkazují na 4 regulérní články. Pro lepší pochopení účinku nukleosidů na jednotlivých adenosinových receptorech v různých buněčných liniích by bylo nejlepší udělat tabulku, kde by vše bylo přehledně zobrazeno.

Kapitola Úvod je zbytečně dlouhá, na dvou stránkách zbytečně opakuje Teoretickou část. Teoretická část obsahuje sice spoustu detailů, ale ve většině případů to jsou jen za sebe poskládané kusé informace bez dalšího spojení. V kapitole 3.2 jsem nepochopil důvod vyhledávání a standardizace nových a vhodnějších in vitro technik oproti in vivo modelům. Když už autorka v této kapitole zmínila i buněčné line jiné od choriokarcinomu (i v obrázku) je škoda, že je dále alespoň ve zkratce neprobrala. Kapitola Hypotéza postrádá jakýkoli náznak hypotézy nebo domněnky, a v porovnání s předcházející kapitolou je tedy dle mého názoru nadbytečná, jejím oddělením od jakýchkoli cílů mi nepřijde šikovné.

Metodika je nedostatečně propracovaná a chybí tam i základní reagenty, se kterými autorka pracovala (není tu zmíněn ani jeden nukleosid, který jste používali – výrobce, čistota). Naproti tomu výčet reagentů je přepis obsahu jednotlivých kitů. Sice jsem zastávce stručně a výstižně psaných metodik, ale zde jsou metodiky málo popsány a zorientovat se v tom, jak probíhaly jednotlivé metodiky v reálu, jak dlouhá byla expozice, kdy se buňky zamrazovaly, kolik jich vlastně bylo použito (zmiňují se dvě koncentrace), jak byly sklizeny atd. To je nutné vyčíst z legend a výsledků. Použití párového t-testu pro hodnocení proliferace nepovažuji za vhodné a správné, protože se jedná o různé „jamky“, ne o identické statistické jednotky.

Výsledky jsou celkem dobře popsány, ale stejně jako v jiných částech práce je tam spousta stylistických chyb (např. kap. 7.2 „Pyrimidinové nukleosidy nebyly v obou koncentracích v metabolické úrovni zpozorovány,“ nebo kap. 7.4 „Pyrimidinové nukleosidy zatím nebyly statisticky nevyhodnocené...“). V diskuzi jsou prezentované výsledky částečně diskutované, mohlo zde být více citací uvedených v teoretické části, výsledky exprese jednotlivých transportérů nejsou diskutovány vzhledem k dostupné literatuře. Nicméně oceňuji závěrečnou tabulku s přehledně uvedenými výhodami a limity každé použité metody.

Dotazy a připomínky:

1. Jakých nejvyšších koncentrací dosahuje adenosin při patologických stavech, je známá nějaká závislost míry poškození a jeho hladiny u nějaké konkrétní patologie.
2. Jestli jsem to dobře pochopil, tak při hodnocení proliferace byly kontrolní a ovlivněné jamky různé, nejednalo se o identické buňky či jamky. Šlo jen o buňky ze stejné pasáže v různých jamkách?
3. V metodice ke Click-iT EdU uvádíte, že mezi azidem a alkylem dochází ke „klik“ reakci. O jakou reakci chemicky jde?
4. Normalizace qPCR na dva referenční geny probíhala přes jejich geometrický průměr dle Pfafflovy metody?
5. V diskuzi uvedená formulace „U analýzy těchto transportérů nebyla provedena proteinová analýza, nicméně protože se jedná o linii odvozenou od placenty, předpokládáme funkční stav. Tuto naši domněnku potvrzují data popisující zvýšenou proliferaci v přítomnosti nukleosidů a existují práce, kde inhibice nukleosidových transportérů vede k nižšímu uptake v JEG-3.“ Jaké existující práce myslíte? Proteinovou analýzou myslíte SDS PAGE a imunodetekci analýzu? Tato analýza nemusí mít a priori vztah k funkčnosti proteinu příčinný vztah k funkčnosti proteinu

hodnocení, práce je: velmi dobrá

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

16. září 2022

podpis oponenta/ky